TROUSSE DE DÉPISTAGE DES ANTIGÈNES DE DIROFILARIA IMMITIS CHEZ LE CHIEN WITNESS® HW

Pour la détection de la Dirofilariouse Canine et Féline

I. LE VER DU COEUR

L'infestation par le ver du coeur (dirofilariose) est causée par *Dirofilaria immitis*, un nématode filaire qui, à l'état immature, se transmet d'un animal à l'autre par les moustiques. Chez le chien, les filaires adultes vivent dans le coeur, et les gros vaisseaux sanguins adjacents. Chez le chat, les filaires se développent principalement dans les poumons, ce qui conduit à un Syndrome Respiratoire associé à la Dirofilariose. Bien que principalement une maladie du chien, les parasites de la Dirofilariouse peuvent également infecter le furet et d'autres mammifères, comme le renard roux et le coyote.

II. PRINCIPES

Le test de dépistage WITNESS® HW est simple et repose sur une technologie d'immunomigration rapide permettant de déceler la présence des antigènes de *D. immitis* adulte dans le sang du chien o du chat. Des particules sensibilisés se lient à l'antigène présent dans l'échantillon (sang entier, sérum ou plasma) et migrent le long d'une bande de nitrocellulose. Ce complexe est ensuite capté sur une zone de réaction sensibilisée où son accumulation provoque la formation d'une bande rose à rose violacée nettement visible. La présence d'une bande rose à rose violacée dans la fenêtre témoin permet d'assurer que le test a été réalisé correctement.

III. ÉCHANTILLON

Le test nécessite 50 uL (0,05ml) de plasma, sérum ou sang sur anti-coagulant (EDTA ou héparine). L'hemolyse n'interfère pas significativement avec le test, bien qu'un échantillon fortement hémolysé puisse être à l'origine d'un bruit de fond (hémoglobine) pouvant gêner la lecture en cas de réaction faiblement positive.

IV. CONSERVATION DE L'ÉCHANTILLON

Les échantillons de sang sur anti-coagulant maintenus à température ambiante doivent être testés dans les 4 heures suivant leur prélèvement. Ces échantillons peuvent être conservés réfrigérés (2° et 7°C; 35° et 45°F) jusqu'à 24 heures. Si l'analyse est repoussée, le sérum ou plasma sera conservé réfrigéré (2° et 7°C; 35° et 45°F) jusqu'à 7 jours ou congelé (-20°C) pour une conservation prolongée.

IV. CONTENU DE LA TROUSSE

- 10 ou 25 sachets renfermant chacun 1 plaquette d'épreuve.
- 10 ou 25 pipettes jetables.
- 1 flacon compte-gouttes de solution-tampon (5,0 mL).
- le mode d'emploi.

VI. PRÉCAUTIONS

- Ne pas utiliser la trousse après la date de péremption.
- La réfrigération n'est pas obligatoire. Conserver la trousse à une température entre 2° et 25°C (35° et 77°F). Ne pas congeler.
- Utiliser dans les 30 minutes suivant l'ouverture du sachet scellé.
- Éviter de toucher ou d'endommager la membrane des fenêtres #1, #2 et #3.
- La plaquette d'épreuve WITNESS® doit être placée sur une surface plane et horizontale, pendant toute la durée du test.
- Utiliser une pipette différente pour chaque échantillon.
- Tenir la pipette et le flacon de solution-tampon à la verticale pour déposer respectivement l'échantillon et la solution.
- Ne pas mélanger le contenu de la trousse avec une trousse d'un autre lot.
- Pour usage vétérinaire seulement.

POUR COMMANDER
Fabriqué par:
Synbiotics Corporation
Kansas City, MO 64163 É.-U.
Perm. vét. des É.-U. N° 312
1-800-228-4305
www.synbiotics.com

Sous Licences des brevets É.-U. 4 839 275, canadien 1 232 849 et australien 582 129.

WITNESS® HW TEST PERFORMANCE COMPARISON

Study ID	Sample Size Kit/Reference				Total	Sample Type	Statistical Test	Sensitivity & Specificity 95% Confidence Interval (CI)
	+/+	-/+	+/-	-/-				
1[a]	48	2	0	50	100	Serum	Binomial Distribution	Sen: 96% [95% CI: 86.5% - 98.9%] Spec: 100% [95% CI: 93% - 100%]
1[b]	5	0	0	36	41	Whole Blood EDTA	Binomial Distribution	Sen: 100% [95% CI: 56.6% - 100%] Spec: 100% [95% CI: 90.4% - 100%]
	1	0	0	36	37	Whole Blood Heparin	Binomial Distribution	Sen: 100% [95% CI: 20.7% - 100%] Spec: 100% [95% CI: 90.4% - 100%]
1[c]	5	0	0	36	41	Plasma EDTA	Binomial Distribution	Sen: 100% [95% CI: 56.6% - 100%] Spec: 100% [95% CI: 90.4% - 100%]
	1	0	0	36	37	Plasma Heparin	Binomial Distribution	Sen: 100% [95% CI: 20.7% - 100%] Spec: 100% [95% CI: 90.4% - 100%]
2	98	2	0	30	130	Serum	Binomial Distribution	Sen: 98% [95% CI: 93.0% - 99.5%] Spec: 100% [95% CI: 88.7% - 100%]
Cumulative (Studies #1 and #2)	158	4	0	224	386	All	Binomial Distribution	Sen: 97.5% [95% CI: 93.8% - 99.0%] Spec: 100% [95% CI: 98.3% - 100%]

Study #1 - Results from WITNESS® HW Efficacy Verification Study, May 16, 2006
1[a] Kit results/Reference Test Results (Serum Samples characterized by Necropsy)
1[b] Kit results/Reference Test Results (Whole Blood Samples in Heparin and EDTA characterized by ELISA)
1[c] Kit results/Reference Test Results (Plasma Samples in Heparin and EDTA characterized by ELISA)

Study #2 - Results from WITNESS® HW Serology Study, April 13, 2007
Kit results/Reference Test Results (Serum Samples characterized by Necropsy)

WITNESS® HW COMPARAISON DE LA PERFORMANCE DE TESTS

Id. de l'etude	Taille de l'echantillon Trousse.référence				Total	Type d'échantillon	Analyse statistique	Sensibilité & spécificité relatives Écart type (É.T.) 95%
	+/+	-/+	+/-	-/-				
1[a]	48	2	0	50	100	sérum	Distribution binomiale	Sens: 96% [95% É.T.: 86.5% - 98.9%] Spéc: 100% [95% É.T.: 93% - 100%]
1[b]	5	0	0	36	41	sang complet EDTA	Distribution binomiale	Sens: 100% [95% É.T.: 56.6% - 100%] Spéc: 100% [95% É.T.: 90.4% - 100%]
	1	0	0	36	37	sang complet héparine	Distribution binomiale	Sens: 100% [95% É.T.: 20.7% - 100%] Spéc: 100% [95% É.T.: 90.4% - 100%]
1[c]	5	0	0	36	41	plasma EDTA	Distribution binomiale	Sens: 100% [95% É.T.: 56.6% - 100%] Spéc: 100% [95% É.T.: 90.4% - 100%]
	1	0	0	36	37	Plasma héparine	Distribution binomiale	Sens: 100% [95% É.T.: 20.7% - 100%] Spéc: 100% [95% É.T.: 90.4% - 100%]
2	98	2	0	30	130	sérum	Distribution binomiale	Sens: 98% [95% É.T.: 93.0% - 99.5%] Spéc: 100% [95% É.T.: 88.7% - 100%]
cumulatif (études #1 et #2)	158	4	0	224	386	tout	Distribution binomiale	Sens: 97.5% [95% É.T.: 93.8% - 99.0%] Spéc: 100% [95% É.T.: 98.3% - 100%]

l'étude #1 - Résultats de l'étude de vérification effectivité pour WITNESS® HW, 16 mai, 2006
1[a] Résultats de la trousse/ résultats de la norme de référence (sérum échantillon caractéristique prép autopsie)
1[b] Résultats de la trousse/ résultats de la norme de référence (sang complet échantillon en héparine et EDTA caractéristique prép ELISA)
1[c] Résultats de la trousse/ résultats de la norme de référence (Plasma échantillon en héparine et EDTA caractéristique prép ELISA)

l'étude #2 - Résultats de l'étude de sérologie pour WITNESS® HW, 13 avril, 2007
Résultats de la trousse/ résultats de la norme de référence (sérum échantillon caractéristique prép autopsie)



CANINE HEARTWORM ANTIGEN TEST KIT WITNESS® HW

For the detection of canine and feline heartworm infection

I. HEARTWORM DISEASE

Heartworm disease is caused by *Dirofilaria immitis*, a filarial nematode whose immature stages are transmitted between animals by mosquitoes. In dogs, the adult heartworms live in the heart and adjacent large blood vessels. In cats, heatworms affect primarily the lungs and lead to Heartworm Associated Respiratory Disease (HARD). Although primarily a disease of dogs, the parasite can also infect ferrets and other mammals, such as the red fox and the coyote.

II. TEST PRINCIPLES

The WITNESS® HW test is a simple test, based on rapid immunomigration (RIM) technology, which detects the presence of adult *D. immitis* antigens in dog or cat blood. Sensitized particles bound to the heartworm antigens present within the sample (whole blood, serum or plasma) migrate along a nitrocellulose strip. The complex is then captured on a sensitized reaction zone where its accumulation causes the formation of a clearly visible pink/purple band. A pink/purple band in the control window ensures that the test was performed correctly.

III. SAMPLE INFORMATION

50 uL (0.05 mL) of anticoagulated (EDTA or heparin) whole blood, plasma or serum is required. Hemolysis does not significantly interfere with the test, but strongly hemolyzed samples may partly obscure a weak positive band.

IV. SAMPLE STORAGE

Fresh, anticoagulated whole blood should be tested within 4 hours. Anticoagulated whole blood may be stored at refrigeration for up to 24 hours. If longer storage is required, serum or plasma may be stored at refrigeration (2° to 7°C; 35° to 45°F) for up to 7 days. Serum or plasma samples may be frozen (-20°C) if even longer storage is required.

V. KIT CONTENTS

- 10 or 25 pouches, each containing 1 test device.
- 10 or 25 disposable pipettes.
- 1 buffer dropper bottle (5.0 mL).
- Instructions for use.

VI. PRECAUTIONS

- Do not use components after expiration date.
- Refrigeration not required. Store the test kit at 2° to 25°C (35° to 77°F). Do not freeze.
- Use the test within 30 minutes after opening the sealed pouch.
- Avoid touching or damaging membrane at windows #1, #2, #3.
- The WITNESS® device should be placed on a flat, horizontal surface while performing the test.
- Use a separate pipette for each sample.
- Hold pipette and buffer bottle vertically when dispensing sample and buffer.
- Do not mix components of different serials.
- For veterinary use only.

ORDERING INFORMATION
Manufactured by:
Synbiotics Corporation
Kansas City, MO 64163 USA
U.S. Vet. License No. 312
1-800-228-4305
www.synbiotics.com

Licensed under U.S. Pat. No. 4,839,275; Canadian Pat. No. 1,232,849; and Australian Pat. No. 582,129.

03-0075-0808

VII. TEST PROCEDURE AND RESULTS

Important: Allow sample and buffer drops to fall onto membrane at window #1. Do not touch pipette tip, sample or buffer drops, or buffer bottle tip directly to the membrane.

1. Sample application

- Tear open the pouch provided and place the test device on a flat horizontal surface for the duration of the test.
- Squeeze the provided pipette near the sealed end. Insert the open end of the pipette into an anticoagulated whole blood, serum, or plasma sample. Release the pressure slightly to draw up a small amount of sample into the pipette.
- Holding the pipette vertically, transfer one drop of sample to the sample well, window #1. Allow sample to be completely absorbed.

2. Buffer dispensing

- Remove the cap from the buffer bottle, hold it vertically and add two drops of buffer to the sample well window #1.

3. Reading test

- Wait ten minutes, observe the presence or absence of pink/purple bands in reading windows #2 and #3.
- Sample results are read in window #2. The control band is read in window #3.

Notes:
- The test is complete and may be read before 10 minutes if pink/purple bands are visible in both windows #2 and #3.
- The presence of a pink/purple band only in window #3 before 10 minutes does not mean that the test is complete. A pink/purple band in window #2 may develop slower than the control pink/purple band in window #3.

4. Results

Validation

- Valid test: Test is validated if a pink/purple band is present in the reading window #3.

Interpretation

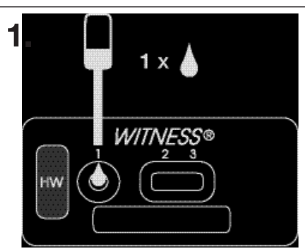
- Negative for HW antigen: No band in reading window #2, with one pink/purple band in window #3.
- Positive for HW antigen: One pink/purple band in reading window #2, with one pink/purple band in window #3.

Invalid Test

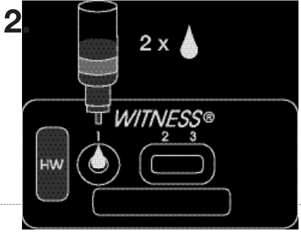
- Invalid test: No pink/purple band in control window #3.

Note: A test result should always be interpreted in the context of all available clinical information and history for the dog or cat. Cats testing negative for heartworm antigen may benefit from other diagnostic tests, including heartworm antibody assays.

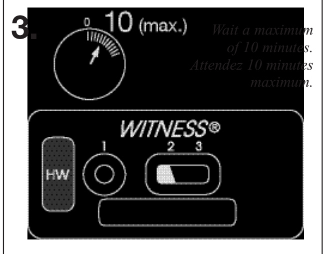
WITNESS® TEST PROCEDURE
PROCÉDURE DU TEST

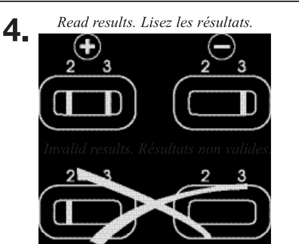


Add 1 drop of anticoagulated whole blood, plasma or serum. Allow sample to be completely absorbed. Ajoutez une goutte de plasma, sérum ou ang sur anti-coagulant. Permettez à l'échantillon d'être complètement absorbé.



*Add 2 drops of buffer.
Ajoutez 2 gouttes de tampon.*





VII. PROCÉDURE DU TEST ET RÉSULTATS

Important: Laisser tomber les gouttes d'échantillon et de solution-tampon sur la membrane de la fenêtre #1. Ne pas mettre le bout de la pipette, ni les gouttes d'échantillon ou de solution-tampon, ni l'extrémité du compte-gouttes de solution-tampon directement en contact avec la membrane.

1. Dépôt de l'échantillon

- Ouvrir le sachet fourni et déposer la plaquette sur une surface plane et horizontale pour la durée du test.
- Presser la pipette fournie près de l'extrémité scellée. Insérer l'ouverture de la pipette dans un échantillon de sang entier non coagulé, de sérum ou de plasma. Relâcher légèrement la pression pour aspirer une petite quantité d'échantillon dans la pipette.
- En tenant la pipette à la verticale, laisser tomber une goutte d'échantillon dans le puits de la fenêtre #1. Permettez à l'échantillon d'être complètement absorbé.

2. Addition de solution-tampon

- Retirer le bouchon du flacon de solution-tampon, tenir le flacon à la verticale et ajouter deux gouttes de solution dans le même puits, à la fenêtre #1.

3. Lecture du test

- Attendre dix minutes puis regarder si des bandes roses à roses violacées apparaissent ou non aux fenêtres #2 et #3.
- Lire les résultats du test de l'échantillon dans la fenêtre #2. La bande témoin se trouve dans la fenêtre #3.

Remarques:
- Le test est terminé et on peut en faire la lecture moins de dix minutes après le début si des bandes roses à roses violacées apparaissent à la fois dans les fenêtres #2 et #3.
- La présence d'une bande rose à rose violacée uniquement dans la fenêtre #3 avant dix minutes ne signifie pas que le test soit terminé. Il se peut qu'une bande rose à rose violacée mette plus de temps à se développer dans la fenêtre #2 dans la fenêtre #2 que la bande témoin dans la fenêtre #3.

4. Résultats

Validation

- Test valide: le test est valide lorsqu'on voit une bande rose à rose violacée dans la fenêtre #3

Interprétation

- Absence de l'antigène de D. immitis: la fenêtre #2 n'affiche pas de bande tandis que la fenêtre #3 présente une bande rose à rose violacée.
- Présence de l'antigène de D. immitis: une bande rose à rose violacée apparaît à la fois dans la fenêtre #2 et la fenêtre #3.

Test non valide

- Le test est non valide lorsqu'aucune bande rose à rose violacée n'apparaît dans la fenêtre #3.

Remarque: Le résultat d'un test doit toujours être interprété en tenant compte du tableau clinique et des commémoratifs du chien ou du chat. Chez le chat, un résultat négatif à un test de détection d'antigène de Dirofilaria sera toujours conforté par les résultats d'autres tests diagnostics, notamment ceux recherchant les anticorps anti-Dirofilaria.